

# VU Research Portal

## **Rheumatoid Arthritis: The link between thyroid dysfunction, cardiovascular disease and B cell targeting**

Raterman, H.G.

2013

### **document version**

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

### **citation for published version (APA)**

Raterman, H. G. (2013). *Rheumatoid Arthritis: The link between thyroid dysfunction, cardiovascular disease and B cell targeting*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

### **General rights**

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

### **Take down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

### **E-mail address:**

[vuresearchportal.ub@vu.nl](mailto:vuresearchportal.ub@vu.nl)

# NEDERLANDSE SAMENVATTING

## DE STREKKING VAN DIT PROEFSCHRIFT

Reumatoïde artritis (RA) is een chronische ontstekingsziekte van met name de kleine hand- en voetgewrichten, die gepaard gaat met zwelling, pijn en functieverlies van het aangedane gewricht, die bij ongeveer 1% van de algemene bevolking voorkomt. Naast de betrokkenheid van de gewrichten kan RA ook gepaard gaan met problemen in andere organen, zoals osteoporose (botontkalking) en hart- en vaatziekten (HVZ), ook wel de extra-articulaire manifestaties van RA genoemd. Eerdere studies hebben laten zien dat schildklierafwijkingen, zoals een traag werkende schildklier (hypothyreoïdie), mogelijk vaker voorkomen bij patiënten die lijden aan RA. In het eerste hoofdonderwerp van dit proefschrift wordt de relatie tussen hypothyreoïdie en RA bestudeerd en wordt in kaart gebracht hoe vaak hypothyreoïdie voorkomt bij RA. Tevens wordt in dit gedeelte ingegaan op de relatie tussen schildklierafwijkingen enerzijds en het risico op HVZ anderzijds bij patiënten die lijden aan RA. Bovendien beschrijft dit gedeelte veranderingen in schildklierfunctie die optreden bij RA patiënten die behandeld worden met moderne behandelingsmogelijkheden, de zogenaamde “biologicals”. Eén van de medicamenten die tot de groep van biologicals behoren is rituximab (RTX). RTX is een geneesmiddel dat zich specifiek richt tegen een eiwit, CD20, op de celwand van een bepaalde soort afweercellen, de zogenaamde B lymfocyten. Deze B lymfocyten lijken een belangrijke rol te spelen in het ontstaan van RA en het persisteren van de ontstekingsreactie in de aangedane gewrichten. Door binding van dit geneesmiddel aan de B lymfocyten zullen deze vernietigd worden met als doel de ontstekingsreactie te verminderen om hiermee verdere schade aan de gewrichten te voorkomen. Het onderdrukken van de chronische ontsteking is niet alleen van belang om schade aan gewrichten te voorkomen, maar lijkt ook van belang voor het verkleinen van het verhoogde risico op HVZ. Zo heeft chronische ontsteking onder andere een negatieve invloed op het cholesterolprofiel. Omdat onbekend is of RTX een verbetering geeft van het cholesterolprofiel, wat een belangrijke maat voor het risico op HVZ is, wordt in het tweede gedeelte van dit proefschrift ingegaan op de veranderingen die optreden in het cholesterolprofiel tijdens RTX behandeling. Bovendien wordt in het tweede gedeelte onderzocht welke biologische processen ten grondslag liggen aan de therapierespons op RTX. Dit wordt onderzocht door veranderingen in de hoeveelheid genproducten (de zogenaamde genexpressie) te meten. Tevens wordt in dit gedeelte onderzocht of er voor de start van therapie met RTX op basis van meting van deze genexpressie profielen een onderscheid gemaakt kan worden tussen RA patiënten die niet zullen reageren op RTX en RA patiënten die goed zullen reageren op RTX.

## DEEL 1. SCHILDKLIERDYSFUNCTIE EN REUMATOÏDE ARTRITIS: MEER DAN COMORBIDITEIT

De afgelopen decennia is steeds duidelijker geworden dat schildklierafwijkingen relatief vaak voorkomen bij patiënten die lijden aan RA. Hiermee rijst de vraag of schildklierdysfunctie ook als een extra-articulaire manifestatie van RA gezien moet worden.

In **hoofdstuk 1.1** wordt onderzocht wat de prevalentie is van hypothyroïdie bij RA patiënten die deelnemen aan een studie die onderzoekt hoe groot het risico op HVZ is bij RA patiënten die behandeld worden in een gespecialiseerd reumatologisch verwijzingscentrum. Tevens wordt de prevalentie van hypothyreoïdie onderzocht bij RA patiënten, die geregistreerd staan bij een huisartsenpopulatie uit de algemene bevolking. In **hoofdstuk 1.1a** wordt een meer dan tweevoudig verhoogd risico op hypothyroïdie bij RA beschreven vergeleken met de prevalentie van hypothyreoïdie in de algemene bevolking. Een opvallende bevinding is dat hypothyreoïdie met name bij vrouwen voorkomt. Bovendien blijken hart- en vaatziekten meer dan drie keer zo vaak voor te komen bij vrouwen die zowel hypothyreoïdie als RA hebben, vergeleken met vrouwelijke RA patiënten met een normale schildklierfunctie. In **hoofdstuk 1.1b** wordt de prevalentie van hypothyreoïdie bij patiënten met ontstekingsziekten van de gewrichten, de zogenaamde inflammatoire artritis patiënten, nogmaals bepaald in een steekproef van de algemene bevolking bestaande uit meer dan 175000 patiënten uit een huisartsenpopulatie. In dit hoofdstuk wordt een meer dan tweevoudig verhoogd risico op hypothyroïdie beschreven bij patiënten met inflammatoire artritis ten opzichte van patiënten zonder inflammatoire artritis. Deze studie laat zien dat het risico op HVZ bij patiënten met hypothyreoïdie en inflammatoire gewrichtsziekten meer dan tweevoudig verhoogd is ten opzichte van patiënten met inflammatoire artritis zonder hypothyreoïdie en meer dan viervoudig verhoogd is ten opzichte van patiënten zonder hypothyreoïdie en inflammatoire artritis. Aangezien dit verhoogde risico op hart- en vaatziekten onafhankelijk van traditionele risicofactoren voor HVZ lijkt te zijn, suggereert dit een onafhankelijke rol van hypothyreoïdie op het verhoogde HVZ risico in patiënten met inflammatoire gewrichtsziekten zoals RA.

In de algemene bevolking is hypothyreoïdie geassocieerd met verschillende risicofactoren voor HVZ, zoals verminderde gevoeligheid voor het hormoon insuline (insuline resistentie), een afwijkend cholesterol profiel en toegenomen vetophoping op de romp en in de buikholte (abdominale adipositas). Het geclusterd voorkomen van deze risicofactoren voor HVZ wordt ook wel het metabool syndroom genoemd. Naast de relatie met HVZ gaat het metabool syndroom ook gepaard met een toegenomen risico voor het ontstaan van suikerziekte (diabetes mellitus). Als het metabool syndroom frequenter voorkomt bij patiënten met zowel hypothyreoïdie als RA dan bij RA patiënten zonder hypothyreoïdie, zou dit een belangrijke factor voor het verhoogde risico op HVZ in deze

patiëntenpopulatie kunnen zijn. Om deze reden wordt in **hoofdstuk 1.2** bij 257 RA patiënten zonder eerdere HVZ het voorkomen van het metabool syndroom bestudeerd. In deze studie werd gevonden dat het metabool syndroom bij 43% van de hypothyreote RA patiënten voorkomt en dat het risico op het voorkomen van metabool syndroom ongeveer drievoudig verhoogd is bij RA patiënten met hypothyreoïdie vergeleken met RA patiënten met normale schildklierfunctie. Daarnaast blijkt het geschatte 10-jaarsrisico op HVZ significant hoger bij hypothyreote RA patiënten ten opzichte van RA patiënten met normale schildklierfunctie. Deze bevindingen benadrukken het toegenomen risico op HVZ bij RA patiënten die tevens hypothyreoïdie hebben.

De ziekte van Hashimoto is de meest voorkomende vorm van (auto-immuun) hypothyreoïdie en wordt gekenmerkt door een verhoogde aanwezigheid van antistoffen tegen het enzym thyroid peroxidase (TPOabs). Aangezien hypothyreoïdie vaak voorkomt bij RA en het niet goed onderzocht is hoe vaak TPOabs voorkomen bij RA patiënten, wordt in **hoofdstuk 1.3** bestudeerd wat de prevalentie is van TPOabs in patiënten die gediagnosticeerd zijn met RA. Tevens wordt nagegaan of TPOabs gepaard gaan met een verhoging van het risico op HVZ. Bovendien wordt onderzocht of er een relatie bestaat tussen TPOabs enerzijds en RA kenmerken anderzijds. In deze studie werd gevonden dat bij 15% van de 322 RA patiënten TPOabs aanwezig bleken te zijn, terwijl deze antistoffen in de algemene bevolking bij ongeveer 8% voorkomen. Naast de verhoogde prevalentie van TPOabs, liet deze studie bij patiënten met TPOabs ook een grotere toename in diameter van de vaatwand van de halsslagader en een hogere ziekteactiviteit zien.

Aangezien niet goed bekend is of chronische ontsteking een rol speelt in het ontstaan van schildklierafwijkingen, zou een verbetering van schildklierfunctie gedurende het gebruik van sterk afweeronderdrukkende middelen, die een duidelijk ontstekingsremmende werking hebben, een aanwijzing kunnen zijn dat ontstekingsreacties een belangrijke rol spelen bij de ontwikkeling van schildklierafwijkingen. Om deze reden werd in **hoofdstuk 1.4** onderzocht hoe de schildklierfunctie veranderde bij 138 RA patiënten gedurende de behandeling met adalimumab, een geneesmiddel dat tot de groep van TNF blokkerende geneesmiddelen behoort en een sterk ontstekingsremmende werking heeft door het ontstekingseiwit TNF, ook wel cytokine genoemd, weg te vangen. Uit deze studie bleek dat het schildklier stimulerend hormoon (TSH) verbeterde gedurende de behandeling met adalimumab en met name bij de patiënten met TPOabs en zonder schildklierhormoon suppletie. Bovendien beschrijven we in dit hoofdstuk een casus van een RA patiënt met zowel lang bestaande auto-immuun hypothyreoïdie als auto-immuun diabetes, die vier maanden na behandeling met RTX, hyperthyreoot werd. Hoewel beide studies niet meer dan hypothese genererend zijn, benadrukken deze dat er een duidelijke relatie lijkt te bestaan tussen immuunreacties en schildklierfunctie. Om

deze reden is meer aandacht voor verstoring en verbetering van de schildklierfunctie noodzakelijk bij klinici, die patiënten behandelen met immunosuppressieve therapie.

## **KLINISCH PERSPECTIEF EN IMPLICATIES SCHILDKLIERDYSFUNCTIE EN REUMATOÏDE ARTRITIS: MEER DAN COMORBIDITEIT**

Dit proefschrift laat zien dat hypothyreoïdie bij ongeveer 7% van de patiënten met RA voorkomt. In vergelijking met de prevalentie in de algemene bevolking is deze meer dan tweevoudig verhoogd. Deze bevindingen bevestigen de hypothese dat de prevalentie van hypothyreoïdie verhoogd is bij patiënten die lijden aan RA. Om deze reden is het relevant dat klinici gemotiveerd worden om actief te screenen voor hypothyreoïdie bij RA patiënten en dat behandeling gestart wordt voor deze aandoening.

Bovendien dragen de onderzoeksresultaten in dit proefschrift bij aan het algemeen geaccepteerde idee dat auto-immuun ziekten de neiging hebben om gepaard te gaan met andere auto-immuunziekten. Een oorzaak voor het geclusterd voorkomen van auto-immuun ziekten zou kunnen liggen in een gemeenschappelijke genetische achtergrond van de verschillende auto-immuun aandoeningen. Vanuit deze achtergrond is het intrigerend te noemen, dat patiënten met een gemeenschappelijke genetische oorsprong met de aanwezigheid van dezelfde zogenaamde auto-immuuningen, zich kunnen presenteren met een totaal andere ziekte manifestatie, ook wel aangeduid als het "mozaïek van auto-immuniteit". Ondanks deze verscheidenheid aan ziektemanifestaties lijkt er een gemeenschappelijke onderliggende factor te zijn, te weten de aanwezigheid van ontsteking (inflammatie). Echter, tot op heden is het niet duidelijk of ontsteking een rol speelt bij het ontstaan van auto-immuunziekten zoals hypothyreoïdie. De onderzoeksresultaten zoals beschreven in dit proefschrift suggereren dat ontsteking een belangrijke rol speelt bij hypothyreoïdie ontwikkeling, aangezien gedurende de behandeling met het immunosuppressieve geneesmiddel adalimumab de schildklierfunctie sterk verbeterde bij patiënten met hypothyreoïdie die geen schildklierhormoon suppletie kregen. Deze vondst doet vermoeden dat effectieve immunosuppressieve therapie een positieve invloed kan hebben op de schildklierfunctie. Analooq aan deze hypothese werd in een studie uitgevoerd bij muizen, gevonden dat bij chronische expositie aan ontstekings eiwitten, zoals bijvoorbeeld de cytokines TNF en IL6, afwijkingen werden gezien in het schildklierweefsel die sterke gelijkenis toonden met auto-immuun hypothyreoïdie. Bovendien beschrijft dit proefschrift veranderingen in schildklierfunctie gedurende de behandeling met RTX in een patiënt met lang bestaande auto-immuun hypothyreoïdie. Deze resultaten suggereren dat inflammatie een duidelijke rol heeft in het ontstaan van hypothyreoïdie. Daarom is

het noodzakelijk om te achterhalen welke mechanismen van inflammatie voor hypothyreoïdie zorgen en om uit te zoeken of, en welke immunomodulerende behandelingen een gunstig effect kunnen hebben op hypothyreoïdie.

Een andere belangrijke bevinding van dit proefschrift is de observatie dat hypothyreoïdie het risico op HVZ vergroot bij patiënten die lijden aan RA. Mede gezien de resultaten van een studie verricht in de Verenigde Staten, waarin wordt beschreven dat hypothyreoïdie het risico op het ontstaan van nieuwe HVZ bij RA patiënten onafhankelijk van traditionele risicofactoren voor HVZ verdubbelde, is bewustwording van dit verhoogde risico op HVZ bij clinici noodzakelijk. Om deze reden moet hypothyreoïdie beschouwd worden als een belangrijke risicofactor in het ontwikkelen van HVZ en is het actief opsporen en behandelen van hypothyreoïdie noodzakelijk. Daarnaast toont dit proefschrift ook een verhoogd voorkomen van risicofactoren van HVZ bij RA patiënten met hypothyreoïdie aan, waar extra aandacht voor moet zijn. Een aantal factoren lijkt verantwoordelijk te zijn voor dit verhoogde risico op HVZ. Als eerste komt het metabool syndroom verhoogd voor bij hypothyreote RA patiënten. Daarnaast blijkt er sprake van een grotere toename in de vaatwanddiameter van de halsslagader bij RA patiënten, waarbij TPOabs aanwezig zijn. Een derde factor, die meer aandacht behoeft, is de rol van chronische ontsteking bij patiënten met hypothyreoïdie. Met name, omdat RA patiënten met aanwezigheid van TPOabs een hogere ziekteactiviteit van hun RA en hogere ontstekingswaarden hebben en het bekend is dat ontsteking een negatieve invloed heeft op risicofactoren voor HVZ. Ten vierde behoeft adequate behandeling van hypothyreoïdie meer aandacht bij artsen. Bovendien zijn zowel RA als hypothyreoïdie geassocieerd met disfunctioneren van de binnenbekleding van de vaatwand (endotheel), wat mogelijk extra naar voren komt wanneer beide ziektebeelden samen voorkomen en dus mogelijk leiden tot extra vaatwand disfunctioneren. Al deze en waarschijnlijk nog andere factoren spelen een rol in het verhoogde risico op HVZ bij hypothyreote RA patiënten. Concluderend, hypothyreoïdie verhoogt het risico op HVZ bij RA patiënten. Om deze reden zijn behandelstrategieën ter verlaging van het risico op HVZ (cardiovasculair risicomanagement) vereist bij deze patiënten. De resultaten van dit proefschrift suggereren dat hypothyreoïdie gezien zou kunnen worden als een extra-articulaire manifestatie.

## **TOEKOMSTIG ONDERZOEK HYPOTHYREOÏDIE EN REUMATOÏDE ARTRITIS: MEER DAN CO-MORBIDITEIT**

De bevindingen van dit proefschrift behoeven nader onderzoek om te ontrafelen welke mechanismen ten grondslag liggen aan de ontwikkeling van auto-immuun hypothyreoïdie en HVZ. De eerste stap kan het identificeren of er een gemeenschappelijke genetische oorsprong is voor hypothyreoïdie en RA zijn. Dit kan bijvoorbeeld tot uiting komen door het aanwezig zijn van identieke genen en genetische afwijkingen (zoals *PTPN22*, *CTLA4*, *STAT4* en interferon (IFN) gereguleerde genen). Een andere vraag die rijst, is of andere auto-immuunziekten zoals coeliakie, auto-immuun diabetes, de ziekte van Addison en vitiligo ook vaker voorkomen bij patiënten die lijden aan RA en of deze ziektebeelden ook een identieke genetische oorsprong hebben bij deze patiënten. Als tweede moet nader onderzocht worden wat precies de rol is van ontsteking bij de ontwikkeling van auto-immuun hypothyreoïdie, omdat dit uiteindelijk ook tot nieuwe behandelingsmogelijkheden kan leiden voor deze patiënten. Ten derde is cardiovasculair risicomanagement nodig bij patiënten met hypothyreoïdie en RA ter verlaging van het risico op HVZ. In eerste instantie lijkt implementatie van cardiovasculair risicomanagement volgens Europese evidence based aanbevelingen noodzakelijk, door invoering van jaarlijkse controle van het risico op HVZ volgens nationale richtlijnen. Na implementatie van deze richtlijnen zal herbepaald moeten worden wat het risico op HVZ is bij RA patiënten met hypothyreoïdie. Bovendien is het de moeite waard om toekomstig onderzoek uit te voeren bij patiënten met subklinische hypothyreoïdie, dat wil zeggen patiënten die een voorstadium van hypothyreoïdie hebben. Het is bijvoorbeeld interessant om te onderzoeken in een gerandomiseerde placebo gecontroleerde studieopzet of schildklierhormoon suppletie bij RA patiënten met subklinische hypothyreoïdie zal leiden tot ontwikkeling van minder HVZ. Bovendien zal het komende decennium duidelijk moeten worden of er risicofactoren te identificeren zijn voor het ontwikkelen van hypothyreoïdie. Het ontdekken en aanpakken van deze factoren, kan wellicht de sleutel zijn in het voorkomen van de cardiovasculaire gevolgen van hypothyreoïdie bij RA patiënten.

## **DEEL II. RITUXIMAB AND REUMATOÏDE ARTRITIS: MEER DAN B LYMFOCYT Vernietiging**

In de afgelopen decennia is duidelijk geworden dat B lymfocyten een belangrijke rol spelen in het ontstaan van RA, gezien hun functie in antilichaam productie, antigeen presentatie, cytokine productie en vorming van nieuwe afweercellen. Een geneesmiddel dat zich specifiek richt tegen deze B lymfocyten is RTX. Dit is een effectief en veilig geneesmiddel voor RA patiënten die niet goed meer reageren op de zogeheten TNF blokkerende geneesmiddelen. Zoals eerder genoemd is effectieve ontstekingsremming bij RA patiënten van belang om hiermee verdere schade aan de gewrichten te



voorkomen. Echter, het goed onderdrukken van de ontstekingsreactie is eveneens van belang om het risico op HVZ gunstig te beïnvloeden. Of therapie, gericht tegen de B-lymfocyt, een gunstige invloed heeft op bijvoorbeeld het cholesterolprofiel is niet goed bekend. Om deze reden werd in **hoofdstuk 2.1** bij 49 patiënten met lang bestaande RA bestudeerd welke veranderingen er optraden in het cholesterolprofiel. Deze studie laat zien dat de atherogene index (verhouding totaal cholesterol ten opzichte van HDL cholesterol) met 9% verbeterde in de onderzochte RA-groep na 6 maanden RTX-behandeling. In de groep van goed op RTX reagerende RA-patiënten was er een (significante) verbetering in het cholesterolprofiel, zichtbaar in verbetering van het HDL cholesterol, atherogene index en de ratio van apolipoproteïne B en apolipoproteïne A. Aangezien bekend is dat HDL cholesterol gedurende ontstekingsperiodes, zoals tijdens een infectie, meer eiwitten gebonden heeft die bijdragen aan een snellere vaatwandverdikking, werd in dit hoofdstuk onderzocht of de samenstelling van het HDL cholesterol veranderde. Inderdaad wordt in **hoofdstuk 2.1** aangetoond dat bij RA-patiënten met hoge ontstekingswaarden, alvorens zij behandeld werden met RTX, op het HDL cholesterol veel ontstekings-eiwitten waren gebonden, die verdwenen bij RA-patiënten die goed reageerden op behandeling met RTX. De onderzoeksresultaten in dit hoofdstuk geven een gunstig effect weer op het cholesterolprofiel van RTX bij RA-patiënten.

Ondanks dat RTX er voor zorgt dat alle B-lymfocyten vernietigd worden, heeft maar 65% van de RTX-behandelde RA-patiënten een vermindering van ziekteactiviteit. Deze individuele verschillen reflecteren het heterogene karakter van het ziektebeloop van RA, waaraan verschillende biologische processen ten grondslag kunnen liggen. Om deze reden werd in **hoofdstuk 2.2a** onderzocht of RTX-behandeling biologische processen induceert die het verschil in behandelresultaat kunnen verklaren. In een zogenaamde microarray-studie met een genoom-brede benadering bij 13 RA-patiënten werden verschillen in de expressie van genprofielen geïdentificeerd na RTX-behandeling. Deze kunnen in zes verschillende biologische processen gegroepeerd worden, waarvan processen gerelateerd aan type 1 IFN-responsgenen (IRG) er één is. Dit genexpressieprofiel bleek als enige verhoogd tot expressie te komen drie maanden na start met RTX bij patiënten die een goede therapeutische respons hadden, terwijl patiënten zonder resultaat op RTX geen verhoogde expressie lieten zien na RTX-behandeling.

Deze bevindingen doen de vraag rijzen of er voorafgaand aan de start van behandeling met RTX een verschil in genexpressieprofielen bestaat tussen patiënten die uiteindelijk wel en niet zullen reageren op RTX. Om een antwoord op deze vraag te verkrijgen werd in **hoofdstuk 2.2b** een microarray-studie verricht bij 14 RA-patiënten, waarbij genexpressieprofielen voor de start van behandeling met RTX werden gemeten om responders van nonresponders te kunnen onderscheiden. Deze studie liet zien dat de enige groep genen die een onderscheid konden maken tussen de patiënten die wel en niet

reageren op RTX, genen betroffen die tot de groep van IRG behoorden. Om dit te valideren werd een tweede studie verricht bij 26 andere RTX behandelde patiënten. Uit deze studie bleken de IRG een goed onderscheidend vermogen te hebben tussen wel en niet reagerende RA patiënten (Area Under Curve: 0.82). Tevens bleken de IRG sterk geassocieerd met nonrespons op RTX, onafhankelijk van andere mogelijke voorspellers van behandelingsuitkomst. De resultaten van dit hoofdstuk laten zien dat de mate van expressie van IRG voorafgaand aan de behandeling met RTX goed en robuust het behandelingsresultaat op RTX lijken te voorspellen.

## **KLINISCH PERSPECTIEF EN IMPLICATIES RITUXIMAB AND REUMATOÏDE ARTRITIS: MEER DAN B LYMFOCYT Vernietiging**

Dit proefschrift laat zien dat er een gunstige invloed is op het cholesterolprofiel bij RTX behandelde RA patiënten, wat onder andere tot uiting komt in een daling van 7% van de atherogene index en een daling van 9% van de apoB/apoA-1 ratio, een half jaar na start met RTX. Hoewel deze veranderingen klein lijken, is de verbetering van de atherogene index klinisch relevant, omdat cholesterolverlagers zoals statines, die als doel hebben het risico op HVZ te verlagen door verlaging van het cholesterol, veranderingen van de atherogene index lieten zien die in dezelfde range lagen. Bovendien is de bevinding van een verbetering van de atherogene index intrigerend, aangezien dit voor andere behandelstrategieën zoals de TNF blokkerende middelen niet kon worden aangetoond. Daarentegen lijkt de behandeling met deze groep van biologicals wel gepaard te gaan met een verlaging van het ontstaan van HVZ. Om deze reden moet nader onderzocht worden of de verbetering van de atherogene index uiteindelijk eveneens zal leiden tot minder HVZ na langdurige RTX behandeling.

Daarnaast laat dit proefschrift een duidelijke relatie zien tussen verbetering in ontstekingsparameters en het cholesterolprofiel. Deze bevindingen onderstrepen de innige relatie tussen ontsteking en een afwijkend cholesterolprofiel, wat een belangrijke factor is voor versnelde vaatwandverkalking. Aangezien de aanwezigheid van ontsteking een duidelijke negatieve invloed heeft op het ontstaan van HVZ, is een goede onderdrukking van ontsteking middels sterke immunosuppressieve behandeling niet alleen van belang om verdere schade aan de aangedane gewrichten te voorkomen, maar ook van belang om het toegenomen risico op HVZ te verlagen. Naast deze gunstige effecten op het cholesterolprofiel toont dit proefschrift dat in situaties van hoge ziekteactiviteit de samenstelling van het HDL cholesterol ook een inflammatoir karakter heeft. Dit wordt zichtbaar door de aanwezigheid van een grote hoeveelheid van een ontstekings eiwit, serum amyloid A, gebonden aan het HDL cholesterol. Deze observatie benadrukt dat het HDL eiwit functionele eigenschappen heeft. Zo heeft een eerdere studie aangetoond dat het HDL eiwit een

anti-inflammatoire en anti-oxidatieve werking heeft en een rol speelt bij vermindering van celadhesiemoleculen op de vaatwand. Deze eigenschappen lijken verloren te gaan wanneer er sprake is van ontsteking, waardoor de samenstelling van het HDL eiwit meer de neiging heeft tot het versnellen van verdikking van de vaatwand. In dit kader is de bevinding dat RTX het HDL eiwit minder inflammatoir maakt en daardoor minder neiging geeft tot vaatwandverdikking, één die van groot belang is. Al deze resultaten van dit proefschrift tonen een gunstig effect op het cholesterolprofiel aan gedurende de behandeling met RTX.

Dit proefschrift laat zien dat ongeveer 60% van de RA patiënten die behandeld werden met RTX na 6 maanden een gunstig effect ondervinden van RTX behandeling. Dit is een opmerkelijke bevinding aangezien dit overeenkomt met het percentage patiënten met een gunstig effect na behandeling met RTX vanuit studies met een gerandomiseerd gecontroleerde studieopzet. Hoewel deze getallen veelbelovend zijn voor een patiëntenpopulatie met lang bestaande en relatief therapieresistente RA, is het goed te realiseren dat er nog steeds een grote groep niet goed reageert op dit geneesmiddel. Deze bevinding onderstreept dat RA patiënten verschillend reageren op therapie en toont het heterogene karakter van RA. Dit heterogene karakter wordt ook weerspiegeld in de interindividuele diversiteit in expressie van verschillende genexpressieprofielen bij de onderzochte groep RA patiënten die behandeld werden met RTX. Een andere opmerkelijk onderzoeksresultaat in dit proefschrift is dat na categoriseren op therapie respons, het enige verschil in expressie van genen, een verschil in genen gereguleerd door type I IFN was. Type I IFN lijkt een gemeenschappelijke factor te zijn bij verschillende auto-immuunziekten, aangezien type I IFN bij diverse auto-immuunziekten, zoals systemische sclerose, systemische lupus erythematosus, het syndroom van Sjögren en type I diabetes mellitus, is beschreven. Type I IFN kunnen opgereguleerd worden door de volgende factoren: een genetische predispositie (*HLA-DR*, *STAT4*, *Tyk2* en *IRF5*), exogene factoren zoals roken, bacteriële en virale infectie en endogene factoren zoals afstervend weefsel of cellen. Hypothetisch gezien resulteert B lymfocyt vernietiging door RTX bij patiënten met een genetische predispositie in het ontstaan van afstervende B lymfocyt resten wat IFN productie bevordert bij met name RA patiënten met een lage IFN activiteit. Bovendien draagt IFN activiteit bij aan het stimuleren van B lymfocyt overlevingsfactoren (BLYS en APRIL) om te voorkomen dat nog meer B lymfocyten zullen verdwijnen. Deze dynamiek in IFN is een goede weerspiegeling van onderliggende biologische processen gedurende RTX behandeling. Eén van de meest interessante bevindingen was de hoge type I IFN expressie bij patiënten die niet goed reageren op RTX en het vermogen van dit gencluster om adequaat patiënten die wel en niet op RTX therapie zullen reageren te kunnen onderscheiden. Daarnaast stimuleert type I IFN uitrijping, activatie en overleving van dendritische cellen, die weer een volledige cascade aan ontstekingsreacties te weeg brengen. Deze biologische processen lijken

een goede verklaring voor blijvende ziekteactiviteit bij patiënten die voor begin van RTX behandeling een hoge activiteit hebben van type I IRG.

De hierboven beschreven bevindingen van de farmacogenomische studie onderstrepen de heterogeniteit van RA, omdat patiënten met een hoge IRG expressie een andere subgroep van RA lijkt te representeren en een andere en in dit geval slechtere behandelingsuitkomst hebben. Daarnaast tonen de resultaten van dit proefschrift een duidelijke relatie aan tussen de uitkomst van behandeling en de mate van activiteit van IRG.

### **TOEKOMSTIG ONDERZOEK RITUXIMAB EN REUMATOÏDE ARTRITIS: MEER DAN B LYMFOCYT VERNIETIGING**

De observaties gedaan in dit proefschrift behoeven nader onderzoek in de komende decennia. Vanuit cardiovasculair gezichtspunt is een belangrijke vraag, of de verbetering in de atherogene index uiteindelijk zal leiden tot een lager percentage in het ontstaan van nieuwe HVZ. Daarnaast illustreren de resultaten van dit proefschrift de innige relatie tussen ontsteking enerzijds en een slecht cholesterolprofiel anderzijds. Om deze reden zouden toekomstige studies met als thema RA en een ongunstig cholesterolprofiel zich moeten richten op de beschermende functionele eigenschappen op HVZ van het HDL cholesterol in relatie met ontsteking en vaatwandverdikking. Dit soort studies zullen naar verwachting uiteindelijk leiden tot een beter inzicht welke biologische processen ten grondslag liggen aan de ontwikkeling van HVZ in RA patiënten. Bovendien zal goed onderzocht moeten worden welke invloed RTX heeft op andere surrogaat markers voor HVZ ontwikkeling om een goed antwoord te kunnen geven of RTX een bescherming geeft op ontwikkeling van HVZ. De identificatie van IRG als goede voorspeller van non response doet de vraag rijzen of het gevonden cluster van IRG genen kan fungeren als biomarker voor RTX behandeling. Een eerste stap die hiervoor gezet zal moeten worden is aantonen of type I IFN genen voorspellend zijn in grote studies met een prospectieve studieopzet. De uitkomst van deze studie zal bepalen of de genset van IRG een biomarker is voor RTX behandeling. Vermeldenswaardig hierbij is dat onafhankelijk van ons cohort andere instituten inmiddels ook een duidelijke relatie hebben beschreven tussen RTX uitkomst en IRG. Wat dat betreft zijn de bevindingen van dit proefschrift een duidelijk voorbeeld wat voor potentie farmacogenomische studies hebben om nieuwe biomarkers te ontdekken voor therapie respons. Toekomstige studies zullen echter moeten uitwijzen wat de klinische bruikbaarheid is van IRG ten opzichte van andere potentiële biomarkers zoals de aanwezigheid van de reumafactoren en ACPA, antistofvorming en spiegels van RTX. Uiteindelijk brengen de resultaten van dit soort studies gepersonaliseerde geneeskunde een stap dichterbij.

## **CONCLUSIE**

Dit proefschrift toont een verhoogde prevalentie van hypothyreoïdie bij patiënten met RA. Bovendien is hypothyreoïdie een belangrijke mediator in het ontstaan van HVZ bij RA patiënten. Daarom is de tijd rijp dat klinici niet alleen kennis nemen van dit verhoogde risico op HVZ bij hypothyreote RA patiënten maar ook actie ondernemen door screening en behandeling van hypothyreoïdie en het HVZ risico bij deze specifieke patiëntengroep. Daarnaast toont dit proefschrift een duidelijke relatie tussen ontsteking en slecht cholesterol profiel aan, wat eens te meer het belang onderstreept van het goed onder controle houden van de ziekte door middel van effectieve immunosuppressieve therapie om het HVZ risico te verbeteren. Als laatste laat dit proefschrift zien dat de moleculaire heterogeniteit van RA een duidelijke relatie heeft met uitkomst van een behandeling. Hopelijk zijn deze uitkomsten een kleine bijdrage om in de toekomst de laatste stappen te kunnen zetten naar gepersonaliseerde geneeskunde.